

学位授与番号	医博乙第1178号
学位授与年月日	平成4年4月15日
氏名	沖野善則
学位論文題目	<i>Clostridium difficile</i> の孢子形成に及ぼすアミノ酸の影響

論文審査委員	主査教授	中村信一
	副査教授	山本悦秀
	教授	正印達

## 内容の要旨および審査の結果の要旨

*Clostridium difficile* (*C. difficile*) による偽膜性大腸炎、抗生物質関連下痢症の再発、本菌による病院環境の汚染には孢子が重要な役割を果たしている。そこで、本研究では本菌の孢子形成条件を明らかにすべく、各種アミノ酸の孢子形成に及ぼす影響について検討した。更に、孢子形成と毒素原性についても検討した。*C. difficile* 5菌株を用い、18種類のアミノ酸について、各アミノ酸欠損および強化合成培地における孢子形成を測定することにより、孢子形成に必須のアミノ酸および孢子形成促進アミノ酸を求めた。代謝脂肪酸の解析はガスクロマトグラフィーにより行った。研究成果は以下のように要約される。

(1) 孢子形成に必須のアミノ酸はグルコースの有無に関わりなくトリプトファン、バリン、システイン、プロリンであった。更に、グルコース存在下においては菌株により幾分異なるがロイシン、メチオニン、グルコース非存在下においては4株においてロイシンが必須であった。これらのアミノ酸は同時に菌の発育に必須であった。(2) 孢子形成促進アミノ酸はバリン、イソロイシン、プロリン、ロイシンの4種類であり、グルコース存在下ではプロリン、グルコース非存在下ではイソロイシンが最も有効なアミノ酸であった。(3) 上述の4種類のアミノ酸を増量した時、菌の発育はロイシンを除き影響を受けなかった。孢子形成率はアミノ酸の増量と共に上昇し、プロリン、イソロイシンについては各々500mg/l (グルコース存在)、4,000mg/l (グルコース非存在) の時はほぼ100%の値を示した。(4) 代謝脂肪酸の解析の結果、プロリン以外の孢子形成促進アミノ酸およびスレオニン、アラニン、セリンが発酵・利用されることが示された。(5) グルコース不含イソロイシン (5,000mg/l) ・プロリン (600mg/l) 強化合成培地において $10^5$ 以上/mlの孢子を形成した菌株は有毒株では20株中5株 (25%)、無毒株では20株中13株 (65%) であった。

以上の結果は、*C. difficile*の孢子形成に必須のアミノ酸は同時に発育に必須のアミノ酸であり、孢子形成促進アミノ酸はStickland反応において電子供与体あるいは電子受容体として働くアミノ酸であることを示唆している。さらに、無毒株の方が有毒株より孢子形成能が強い可能性を示唆している。

以上、本研究は*C. difficile*の孢子形成条件をアミノ酸利用能の観点から明らかにし、かつ毒素原性への孢子形成能の関与を示唆したものであり、医学細菌学、感染症学に寄与する労作と評価された。